



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe)

DAS VERHALTEN DES SERUMPROPERDINS
UNTER EINFLUSS VON WEIN,
AETHYLALKOHOL UND SCHWEFLIGER SÄURE

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Johannes Gutenberg-Universität

Mainz

vorgelegt von

ALEXANDER SPUDAS



1961

Dekan: Prof. Dr. Dr. Lang
Referent: Prof. Dr. H. Kliewe
Tag der mündl. Prüfung: 20. November 1961


GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

DISPOSITION

I. EINLEITUNG

Das Properdinsystem in chemisch-biologischer Hinsicht -
Problemstellung

II. METHODIK

A Tierversuch

1. Versuchsanordnung und -tiere
2. Verfütterung der Testsubstanzen
3. Blutentnahme

B Properdinbestimmung

1. Prinzip
2. Herstellung der Reagenzien
 - a) Zymosan
 - b) Veronalpuffer
 - c) RP- Serum
 - d) R₃- Serum
 - e) Hämolytisches System
3. Properdintitration

III. ERGEBNISSE

A Tabellen und Abbildungen

B Statistik

C Auswertung

IV. DISKUSSION

Diskussion der Methodik

Diskussion der Ergebnisse

V. ZUSAMMENFASSUNG

VI. LITERATUR

I. EINLEITUNG

Die Faktoren, welche die Resistenz des menschlichen Organismus gegenüber krankmachenden Einflüssen bestimmen, lassen sich in spezifische und unspezifische unterteilen.

Die erstgenannten faßt man auch unter dem Begriff der Antikörper zusammen. Sie sind streng spezifisch gegen sog. Antigene (das sind im allgemeinen körperfremde Stoffe, die die Bildung eben jener Antikörper auslösen) gerichtet und stellen Proteine dar, die sowohl in Körperzellen gebunden als auch im Blut zirkulierend vorkommen und mittels immunologischer Methoden nachgewiesen werden können.

Die unspezifischen Abwehrstoffe hingegen besitzen ein weiteres Wirkungsspektrum und im allgemeinen geringere Schutzfunktion. Zu ihnen zählen z.B. die folgenden, gegen grampositive Keime gerichteten Substanzen: Phagozytin (25) und Leukin (56) in den neutrophilen Granulozyten, Spermin (23) und Spermidin (24) in Pankreas und Prostata, Haematin (33) in den Erythrozyten und Plakin (18) in den Thrombozyten. Im Serum wirken Betalysin (45) und Lysozym (10) gegen grampositive bzw. auch gegen gramnegative Bakterien.

Die Diskussion um die Bedeutung der unspezifischen Resistenz wurde durch die Entdeckung des Properdins durch PILLEMER und Mitarb. (46) im Jahre 1953 weiter angeregt. Die Benennung dieses zu den humoralen Abwehrstoffen gehörenden Serumfaktors erfolgte aus dem lateinischen "pro perdere".

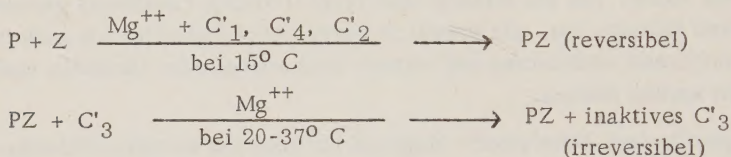
Es ist nicht beabsichtigt, in der vorliegenden Arbeit die bereits jetzt fast unübersehbare Literatur zum Thema "Properdin" aufzuführen. Hierzu sei auf die umfassende Übersicht von H. SCHMIDT (55) und andere Sammelreferate (2, 5, 17, 20, 27, 38, 57, 62) verwiesen.

Für unsere spezielle Fragestellung, die weiter unten dargestellt werden wird, interessieren jedoch einige physikalisch-chemische Charakteristika des Properdins, auf die nachfolgend eingegangen werden soll.

Properdin ist ein Euglobulin mit einem Molekulargewicht von ca. $1,2 \cdot 10^6$ (46) (Sedimentationskonstante $S_{20} = 25$ (28)). Über seine Zugehörigkeit zu den $\beta(6,54)$ - oder $\gamma(41)$ -Globulinen ist noch nichts Eindeutiges bekannt. In 100 ml menschlichem Normalserum sind maximal 2 mg enthalten (28). Properdin ist im Serum stabil bei 48°C , wird bei 56°C innerhalb von 30 min inaktiviert (55), ist weiterhin relativ stabil gegenüber geringen pH-

Änderungen (29) und hält sich im Serum für 1-2 Tage bei 1° C aktiv. Es verträgt Frieren und Auftauen und kann bei größerer Kälte ohne Wirkungsverlust aufbewahrt werden (46).

Eine weitere wichtige Eigenschaft des Properdins (P) ist seine Fähigkeit, sich an Zymosan (Z), ein Polysaccharid aus Hefezellwänden, zu binden. Der so entstandene Properdin-Zymosan-Komplex (PZ) kann unter bestimmten Voraussetzungen die dritte Komplement-Komponente (C'₃) inaktivieren. Es handelt sich hierbei um eine zweistufige Reaktion (46):



Bei 15° - 17° C bindet sich also das im Serum vorhandene P in stöchiometrischem Verhältnis an Zymosan (bei pH 6,8 - 8,6; Ionenstärke 0,4) in Gegenwart von Mg⁺⁺-Ionen und allen Komponenten des Komplements (und evtl. weiterer, bisher nicht genau charakterisierter Cofaktoren (Leon (39))). Der schwerlösliche PZ-Komplex läßt sich durch Zentrifugieren entfernen; das P ist aus ihm wieder absaltbar.

Der PZ-Komplex inaktiviert bei 37° C die 3. Komponente des Komplements irreversibel unter Mitwirkung der obengenannten Faktoren.

Auf diesen Reaktionen beruht die serologische Bestimmungsmethode des Properdins; und auch für alle anderen biologisch wichtigen Eigenschaften des Properdins ist von Bedeutung, daß es seine Wirkung nur im Zusammenhang mit Komplement und Mg⁺⁺-Ionen (und evtl. Cofaktoren) entfaltet (46). Man spricht deshalb von einem Properdin-Komplement-System. Auf die komplexe Funktion, die das Komplement in diesem Zusammenhang hat, und auf die Frage, welche Bedeutung seinen einzelnen Faktoren (C'₁ - C'₄) zukommt, sei hier nicht ausführlich eingegangen, zumal die Diskussion hierüber noch andauert. Die sich hierbei abspielenden Vorgänge glaubt ISLIKER (30) dahin interpretieren zu können, daß die 1. Komplementkomponente, eine Proesterase (40), durch den PZ-Komplex aktiviert wird; dadurch bilde sich aus den phospholipoidreichen Komplementkomponenten C'₁ und C'₃ Lyssolezithin, das stark lytisch wirkt.

Von den übrigen häufiger angewandten Bestimmungsmethoden seien die mikrochemische (29) und die Methode der Phagenneutralisation (1) erwähnt, wobei

die letztere nach neueren Untersuchungen (HUSMANN (26)) jedoch sehr umstritten ist. In besonderen Fällen ist die Bestimmung des "available properdin" (14, 39) vorteilhaft.

Bisher sind folgende Eigenschaften des Properdinsystems bekanntgeworden, die es als einen Faktor im Rahmen der unspezifischen Resistenz bedeutsam werden lassen:

- a) seine Bakterizidie. WARDLAW und PILLEMER (59, 60) fanden, daß nur gramnegative Keime, und zwar vor allem solche aus der Gruppe der Enterobakterien, gegen das Properdinsystem sensibel sind. Grampositive Bakterien erwiesen sich stets als unempfindlich. Properdin selbst scheint also nur einen Teillfaktor im Rahmen der Serumbakterizidie darzustellen. (Über seine Bedeutung für die Infektionsresistenz wird weiter unten berichtet);
- b) seine Virizidie, die bei Untersuchungen am Newcastle-Disease-Virus (61) und Herpes-simplex-Virus (8) festgestellt wurde;
- c) seine Fähigkeit zur Lyse pathologisch veränderter Erythrozyten bei Patienten mit paroxysmaler nächtlicher Haemoglobinurie (22);
- d) seine phageninaktivierende Wirkung (58);
- e) seine Fähigkeit zur Abtötung von Toxoplasmen, die dem Properdin allein (17), bzw. gemeinsam mit den spezifischen Antikörpern gegen die Toxoplasmaerreger (7) zuzuschreiben ist;
- f) seine Opsonin-Aktivität (43); (Opsonine sind nach WRIGHT u. DOUGLAS (64) thermolabile, die Phagozytose stimulierende Substanzen im normalen Serum. Sie verändern die Bakterien derart, daß sie durch Granulozyten phagozytiert werden können);
- g) seine im Tierexperiment beobachtete Fähigkeit, das Anwachsen von Karzinomzellimplantaten zu hemmen (44).

Die bald nach der theoretischen Erforschung des Properdins einsetzenden klinischen Untersuchungen zur Frage des Zusammenhanges zwischen Properdintiter und Infektionsresistenz ergaben u. a. keine Übereinstimmung zwischen Höhe des Properdinspiegels und Schwere der Erkrankung. Es wurden aber bei einigen, vorwiegend durch gramnegative Bakterien verursachten Infektionskrankheiten (vor allem Sepsisformen), verminderte Properdintiter gefunden, jedoch nicht regelmäßig (21). Ob hierbei die Bindung von Properdin an die Bakterienzellwände (49) eine Rolle spielt, sei dahingestellt. Andere Auto-

ren haben ein häufigeres Auftreten geringer Properdintiter bei krebserkrankten Patienten beobachtet (51).

Tierexperimentell ließ sich allerdings ein Zusammenhang zwischen Infektionsresistenz und Properdinspiegel zeigen. Schon die Tatsache, daß Tiere mit einem hohen Properdingehalt im Serum, z. B. Ratten (25-50 E/ml Serum) eine hohe Resistenz gegen natürliche und künstlich gesetzte Infektion besitzen, während Meerschweinchen (1-2 E/ml Serum) sehr infektfähig sind, spricht in dem genannten Sinne (46). Die nach hämorrhagischem Schock (11) und Röntgenbestrahlung (46) beobachtete Anfälligkeit gegenüber Infektionen wurde mit einer Senkung des Properdinspiegels in Zusammenhang gebracht. Andererseits beobachtete man Steigerungen des P-Titers nach parenteraler Verabfolgung von Bakterienzellwänden (52), bakteriellen Polysacchariden und anderen hochmolekularen Polysacchariden wie Zymosan (48, 50). Eine derartige Injektion bewirkte zunächst, allerdings nicht immer (4), einen initialen kurzdauernden Abfall des P-Spiegels, der von einer länger dauernden Steigerung gefolgt war. Über die quantitativen Angaben vergl. (36, 50). Im allgemeinen hielt der Titeranstieg nur wenige Tage an; sein Höhepunkt war in 24-72 Std. erreicht (36, 50).

Gewisse Wirkungen unspezifischer Reiztherapie, deren Mechanismus bislang nicht bekannt war, sind eventuell auf die Beeinflussung des Properdintiters zurückzuführen (ROWLEY (53), v. GRAEVENITZ u. HUSMANN (15)).

Auch vom Alkohol und insbesondere vom Wein ist bekannt, daß er als therapeutisches Adjuvans und Prophylacticum statistisch signifikante Wirkungen entfaltet. So wurde der Wein auch in neuester Zeit (34) als Hilfsmittel einer spezifischen Therapie in der Rekonvaleszenz, bei allgemeinen Schwächezuständen, bei Versagen der Herz- und Kreislauffunktion, bei manchen fieberhaften Erkrankungen, bei Appetitlosigkeit und Magen-Darmstörungen, zur Anregung der Hormondrüsen etc. empfohlen. In diesem Zusammenhang interessierte das Problem, inwieweit die biologischen Wirkungen des Weines möglicherweise über eine Beeinflussung des Properdinspiegels zustandekommen. Zur Klärung dieser Frage wurde in Tierexperimenten der Einfluß von Wein, Alkohol und schwefliger Säure auf den Properdinspiegel zu ermitteln versucht.

II. METHODIK

A. Tierversuch

1. Versuchsanordnung und Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 28 Kaninchen beiderlei Geschlechts im Gewicht von je ca. 2500 g, die in 4 Kollektive à 7 Stück unterteilt wurden. Das Gesamtgewicht jedes Kollektivs war gleich. Die Tiere wurden zu zweit oder zu dritt in denselben Stallungen bei möglichst gleichbleibender Ernährung gehalten.

Zwecks genauerer Wirkungsanalyse der einzelnen Bestandteile des Weines ist neben dem Wein selbst auch Alkohol und schweflige Säure sowie als Kontrolle Leitungswasser verfüttert worden.

Kollektiv Nr.1 erhielt 30 ml Wein pro Tier (1957er Oppenheimer Krötenbrunnen, durchgegoren). Die vom Labor Theo Massing, Mainz, durchgeführte Analyse ergab folgende Zusammensetzung des Weines:

Alkohol = 74,0 g/l = 9,37 Vol%;

Zucker (gesamte reduzierende Bestandteile) = 3,3 g/l;

freie schweflige Säure = 40 mg/l;

gesamte schweflige Säure = 190 mg/l;

Alkohol nach vollständiger Vergärung = 75,1 g/l

Kollektiv Nr.2 erhielt pro Tier 30 ml einer wässrigen Lösung von Aethylalkohol in der im Wein vorkommenden Konzentration. Aus technischen Gründen wurde statt einer 9,37 Vol.%igen Lösung eine 10 Vol.%ige Lösung hergestellt.

Kollektiv Nr.3 erhielt pro Tier 30 ml einer schwefligen Säure, die in ihrer Konzentration der im Weine vorkommenden entsprach. Als Ausgangspräparat diente eine 5-6% SO_2 enthaltende wässrige schweflige Säure (pro analysi) der Fa. Merck, Darmstadt, die vor Verwendung mit destilliertem Wasser verdünnt wurde.

Kollektiv Nr.4 erhielt als Kontrollkollektiv pro Tier 30 ml steriles Leitungswasser.

Es kamen in unseren Versuchen zwei verschiedene Prinzipien zur Anwendung:

a) "Einzelversuch". Hierbei sind einmalig 30 ml Testflüssigkeit verfüttert und die Properdinspiegel vor der Behandlung sowie 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden danach bestimmt worden.

b) "Dauerversuch". Hierbei sind an 4 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils zur gleichen Stunde pro Tier 30 ml Testflüssigkeit verfüttert und die Properdinspiegel vor der Behandlung sowie 6, 12, 24, 48, 72 und 96 Std. danach bestimmt worden.

2. Verfütterung der Testsubstanzen

Je ein Kaninchen wurde in einen an der Frontseite mit einer Öffnung für den Kopf des Tieres versehenen und durch eine Hilfsperson in seiner Lage fixierten Kasten gebracht. Zur Fütterung wurde hinter die Schneidezähne des Tieres eine zentral perforierte Kiefersperre aus Hartgummi geschoben, durch die ein Nelaton-Katheter (Größe 12) sich bequem einführen ließ, so daß die Gefahr einer *via falsa* gering war. Bei Auftreten eines Widerstandes (Cardiospasmus? Bifurcatio tracheae?) mußte die Sonde herausgezogen und nach einer längeren Pause erneut eingeführt werden. Zur Kontrolle der richtigen Lage der Sonde wurde das herausragende Ende in ein Wasserglas verbracht und auf Blasenbildung geachtet. Nach Feststellung der ordnungsgemäßen Lage des Katheters ist die Versuchsflüssigkeit in 2 Portionen à 10 und 20 ml mittels einer angeschlossenen Recordspritze verabfolgt worden.

3. Blutentnahme

Die Gewinnung der erforderlichen Mengen hämolysefreien Blutes aus den Ohrvenen war insofern schwierig, als ein Absaugen des Blutes mittels Spritze infolge der schnellen Gerinnung unmöglich war. Als brauchbare Methode erwies sich das Anstechen der Venen mit einer dicken Kanüle (Kaliber 1) und Auffangen des frei abtropfenden Blutes (ca. 4 ml) in Uhlenhuth-Röhrchen. Während der Nacht waren Blutentnahmen besonders schwierig (Blutdruck-Abfall?). Gelegentlich mußten die Ohrvenen mittels Rasierklinge angeschnitten werden, was leicht zu ihrer Obliteration führte und die folgenden Blutentnahmen sehr erschwerte. Jede Blutprobe wurde nach der Entnahme zentrifugiert, das Serum abgehoben und bis zur Vornahme der Properdintitration bei -20°C (Tiefkühltruhe) eingefroren.

B. Properdinbestimmung

1. Prinzip

Die quantitative Bestimmung des Properdins im Serum erfolgte nach einem von ISLIKER (31) angegebenen modifizierten PILLEMER (47) - Verfahren, welches den Erfordernissen unserer Versuchsanordnung entsprechend nochmals geringfügig geändert wurde. Es handelt sich im wesentlichen um eine modifizierte Komplementbindungsreaktion, die im folgenden beschrieben wird.

Dazu sei zunächst noch einmal auf die bereits in der Einleitung erwähnte Eigenschaft des Properdins, unter bestimmten Bedingungen mit Zymosan zu reagieren, hingewiesen. Das Prinzip der Titrations-Methode besteht darin, daß das betreffende Serum sofort bei 37° C mit Zymosan und Komplement inkubiert wird, daß also die anfangs aufgeführten Schritte - Verbindung von Properdin mit Zymosan bei 17° C und Inaktivierung von C'₃ bei 37° C - nicht getrennt ausgeführt werden. Da hierfür ein Überschuß an Komplement im System notwendig ist, muß ein properdinfreies, aber komplementhaltiges Serum zugesetzt werden. Ein solches RP (= removed properdin) - Serum wird dadurch gewonnen, daß man ein Originalserum bei 17° C mit Zymosan behandelt. Man kann hierfür Human- (47) oder Meerschweinchen Serum (9) verwenden; in Anbetracht der Tatsache, daß 80% aller menschlichen Seren kein brauchbares RP-Serum liefern (39), wurde Meerschweinchen-RP-Serum verwendet.

Da die eine Haemolyse limitierende Komponente des Komplements diejenige ist, die im System quantitativ am geringsten ausgeprägt ist, mußte in unserem Falle C'₃ zur limitierenden Komponente gemacht werden. Dies kann dadurch geschehen, daß ein Überschuß an C'₁, C'₂ und C'₄ geliefert wird, d.h. also dadurch, daß man ein C'₃-freies Serum dem System zusetzt. Ein solches R₃ (= removed C'₃) - Serum erhält man durch Behandeln eines Originalserums mit Zymosan bei 37° C. Auch hierfür wurde Meerschweinchen Serum verwendet, das ohnehin durch die Tatsache, daß seine limitierende Komplementkomponente C'₃ ist (19), dem menschlichen R₃-Serum gegenüber vorteilhaft ist.

2. Herstellung der Reagenzien

- a) Zymosan. Im ersten Teil der Versuche ("Einzelversuch") kam ein Präparat der Fa. Zyma-Blaes, München, im zweiten Teil ("Dauer-

versuch") - eines der Behringwerke Marburg/Lahn zur Verwendung.

b) Veronalpuffer. Zu seiner Herstellung wurden benötigt:

- 85,0 g NaCl
- 5,75 g Diaethylbarbitursäure
- 3,75 g Na-diaethylbarbiturat
- 5,0 ml 1/m $MgCl_2$
- 1,5 ml 1/m $CaCl_2$

Die Bestandteile wurden in 1500 ml heißem Aqua dest. gelöst und die Lösung mit Aqua dest. auf 2000 ml aufgefüllt. Kurz vor Gebrauch ist die benötigte Menge Veronalpuffer im Verhältnis 1:5 mit Aqua dest. verdünnt worden.

c) RP- Serum. Mischblut von ca. 8-10 Meerschweinchen wurde zentrifugiert, das Serum abpipettiert und jeweils dreimal mit Zymosan (3 mg/ml) unter ständigem Rühren in einem Wasserbad von 17° C inkubiert. Zwischen den einzelnen Inkubationen wurde 2 x 10 min, das letzte Mal 30 min lang bei 17° C zentrifugiert, der Bodensatz jedesmal entfernt und das Serum mit 3 mg Zymosan/ml reinkubiert. Das erhaltene RP-Serum mußte folgenden Anforderungen entsprechen (47):

- α) es durfte kein Properdin mehr enthalten;
- β) es durfte nicht antikomplementär sein;
- γ) es mußte nach Zymosanbehandlung noch einen C₃-Titer von über 80 Einheiten/ml besitzen.

Die Prüfung auf die genannten Eigenschaften gestaltete sich folgendermaßen:

- ad α) Es wurden 4 Verdünnungsreihen von RP hergestellt, von denen 2 mit konstanten Mengen Zymosan (1 mg/0,1 ml) versetzt waren. Allen Röhrchen wurde 0,1 ml R₃-Serum zugesetzt, um C₃ zur limitierenden Komponente zu machen. Dann ließen wir das Zymosan 60 min bei 37° C (Schütteln alle 10 min) einwirken. War kein Properdin im RP-Serum mehr vorhanden, so erhielt man nach Zusatz von haemolytischem System, welches wir wiederum 30 min bei 37° C einwirken ließen, und Zentrifugieren in gleichen Verdünnungsstufen gleiche Farbintensitäten.
- ad β) In Reihenversuchen wurden die haemolytischen Aktivitäten von 5 Kaninchenseren (Verdünnung mit Veronalpuffer 1:4) mit denen, die die Kombination dieser Kaninchenseren mit dem RP-Serum ergab (je 0,1 ml der betreffenden Seren) verglichen. Ergab sich in den letztgenannten Reihen eine geringere Extinktion, so war

eine antikomplementäre Aktivität des RP-Serums offensichtlich.

- ad γ) Es wurde eine Verdünnungsreihe des RP-Serums unter Zusatz von R_3 -Serum hergestellt. Die verwandten Seren genügten der Anforderung PILLEMERS, mehr als 80 Einheiten C'_3 /ml zu enthalten.
- d) R_3 -Serum. Mischblut von 8-10 Meerschweinchen wurde zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Dieses Serum wurde mit dem Bodensatz, der bei einem Arbeitsgang in der RP-Herstellung (s.d.) nach dem Zentrifugieren anfiel und der aus dem Properdin-Zymosan-Komplex bestand, bei $37^{\circ}C$ im Wasserbad unter Rühren inkubiert. Dieses von McNALL (42) angegebene Verfahren beruht auf der Tatsache, daß die Inaktivierung von C'_3 in dem relativ properdinarmen Meerschweinchen-serum vollständiger vor sich gehen muß, wenn statt Zymosan bereits ein Properdin-Zymosan-Komplex zugesetzt wird. Entsprechend der RP-Bereitung wurde die genannte Inkubation dreimal ausgeführt. Das nach dem Zentrifugieren erhaltene R_3 -Serum mußte folgenden Forderungen ISLIKERS (31) genügen:
- α) es durfte kein Properdin mehr enthalten;
 - β) es durfte keine Haemolyse verursachen;
 - γ) es durfte nicht antikomplementär sein;
 - δ) es mußte die haemolytische Aktivität einer gleichen Menge eines 1:15 verdünnten Serums um den Faktor 2 steigern.
- ad α) Die Prüfung auf Properdin erfolgte nach demselben Prinzip wie beim RP-Serum angegeben; diesmal wurden 4 Verdünnungsreihen von R_3 hergestellt, zwei Reihen wurde Zymosan zugesetzt. Außerdem erhielt jedes Röhrchen 0,1 ml mit Veronalpuffer 1:15 verdünntes properdinfreies RP-Serum.
- ad β) Es wurde eine Verdünnungsreihe des hergestellten R_3 -Serums angesetzt und die Grenzverdünnung ermittelt, bei der keine Haemolyse mehr in Erscheinung trat. Diese Verdünnung wurde für die unter γ und δ beschriebene Prüfung verwandt.
- ad γ u. δ) Die Prüfung auf Erfüllung der beiden letzten von ISLIKER geforderten Kriterien ist zu einem Versuch zusammengezogen worden. Der Vorgang war der gleiche wie bei der Prüfung des RP-Serums auf antikomplementäre Aktivität, nur kamen hier 5 haemolytisch aktive Humansenen, die 1:15 verdünnt waren, zur Verwendung. 5 Röhrchen wurden mit je 0,1 ml eines aktiven Serums (1:15) beschickt, 5 weitere mit dem Serum und zusätzlich mit je 0,1 ml (1:16) verdünntem R_3 . War keine antikomplementäre

Aktivität mehr vorhanden und entsprach das R_3 -Serum der unter δ geforderten Bedingung, so mußte die Extinktion der mit R_3 und aktivem Serum beschickten Röhrchen mindestens doppelt so hoch sein wie die der Röhrchen mit Aktivserum allein. (Kolorimetrie s. u.).

Die für je eine Reihenbestimmung notwendige Menge an RP- bzw. R_3 -Serum wurde vor Beginn der Titration errechnet und in Einzelgläser abgefüllt.

- e) Haemolytisches System. Hammelblutkörperchen, 2 Tage lang in Alsever'scher Lösung ^{†)} aufbewahrt, wurden 2 mal je 10 min mit physiologischer Kochsalzlösung und einmal mit Veronalpuffer gewaschen und zentrifugiert, bis die überstehende Flüssigkeit völlig klar war. Daraufhin erfolgte die Herstellung einer 1,2%igen Erythrozytenaufschwemmung in Veronalpuffer, der gleiche Teile einer Lösung, die 4 Einheiten (0,01 ml) Kaninchenambozeptor/ml (Behringwerke Marburg/Lahn) enthielt, zugefügt wurden. Vor der Verwendung wurde die Extinktion dieses Systems geprüft, dessen flüssige Phase einen Wert von 0 ergab.

3. Properdintitration

Pro Versuch (Einzel- bzw. Dauerfütterung) wurden, wie oben erwähnt, jeweils 6 bzw. 7 x 28 Blutentnahmen durchgeführt. In einem Arbeitsgang sind die Properdintitrationen, die der Blutentnahme zu einem bestimmten Zeitpunkt (z. B. 12 Stunden nach Fütterung) bei allen 4 Kollektiven entsprachen, durchgeführt worden. Jeder Ansatz wurde doppelt ausgeführt, um Pipettierfehler auszuschalten.

Pro Kaninchenserum wurden demnach 2 Verdünnungsreihen (0,1 ml/Röhrchen) mit Veronalpuffer (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32) durch Überpipettieren in Uhlenhuth-Röhrchen hergestellt (insgesamt also pro Arbeitsgang 336 Röhrchen).

RP-Serum wurde kurz vor Gebrauch 1:10 mit Veronalpuffer (VP) verdünnt. Noch in dieser Konzentration entsprach es den oben gestellten Anforde-

^{†)} 20,5 g Glucose;
8,0 g Natriumcitrat * 2 H₂O;
4,2 g Natriumchlorid;
0,2 g Zitronensäure gelöst zu 1 l dest. Wasser.

rungen. Jedes Röhrchen erhielt hiervon 0,1 ml.

Zymosan (Trockensubstanz) wurde in R_3 -Serum (1:16 mit VP verdünnt) suspendiert, und zwar kamen 10 mg Zymosan auf 1 ml verdünntes R_3 -Serum. Von einem Aufkochen oder Zerreiben (sog. "Aktivierung" (3)) des Zymosans wurde abgesehen. Das R_3 -Serum erwies sich in der genannten Verdünnung als aktiv im Sinne der Kriterien ISLIKERS (31). Jedes Röhrchen erhielt 0,1 ml dieser Suspension.

Die Ansätze wurden nun für 60 min bei 37° C inkubiert und alle 10 min kräftig geschüttelt, damit sich das Zymosan gleichmäßig verteilte. Anschließend erfolgte die Zugabe von 2,0 ml haemolytischen Systems (Extinktion = 0) und erneute Inkubation bei 37° C für 30 min. Zum Schluß wurden die Ansätze zentrifugiert.

Da als eine Properdineinheit pro ml Testserum der reziproke Wert derjenigen Serumverdünnung im Testansatz bezeichnet wird, deren Extinktion bei der photometrischen Messung mit der eines 50-Prozent-Haemolyse-Standards übereinstimmt, wurde ein solcher Standardansatz hergestellt (1,0 ml haemolytisches System + 1,3 ml VP) und dessen Extinktion festgestellt (Wert um 0,31).

Die Extinktionsmessungen der Einzelansätze erfolgten mittel Photometer Eppendorf (Filter 546 m μ) bei einer Verdünnung der Lösung mit Aqua dest. von 1:3 in der Cuvette.

Diejenigen Ansätze, deren Farbintensitäten die des 50-Prozent-Haemolyse-Standards flankierten, wurden photometriert.

Die graphische Ermittlung der Properdineinheiten erfolgte nach der Methode von KABAT und MAYER (32). Auf doppelt logarithmischem Papier wurden die reziproken Werte der Serumverdünnungen als Abszisse, die Extinktionen als Ordinate aufgezeichnet. Zur Feststellung der Properdineinheiten verbindet man die beiden Extinktionswerte derjenigen Verdünnungen, deren Farbintensitäten gerade über bzw. unter der des 50-Prozent-Haemolyse-Standards liegen. Die Projektion des Schnittpunktes dieser Verbindungslinie mit der parallel zur Abszisse laufenden Extinktionsgeraden des Standards auf die Abszisse ergibt die Anzahl der Properdineinheiten des betreffenden Serums pro ml.

III. ERGEBNISSE

A. Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Ergebnisse der Properdin-Titrationen - Versuche mit Einzelgaben -

Versuch	Zeit nach Vers.-Beg. h	N	$\bar{x}$ (E/ml)	s_D	t	p	Signi- fikanz
H ₂ O - Kontr.	0	5	6,99				
	6	5	9,75				
	12	3	9,08				
	24	3	6,51				
	48	6	8,60				
	72	5	6,99				
Wein	0	6	7,00				
	6	7	9,54	1,799	0,1166	>0,05	Ø
	24	4	13,32	1,494	4,552	<0,01	+
	48	6	10,00	1,483	0,9441	>0,05	Ø
	72	7	4,03	0,8443	3,506	<0,01	+
Aethanol	0	6	7,00				
	6	6	10,68	1,607	0,5788	>0,05	Ø
	24	3	12,10	1,702	3,284	<0,05	+
	48	6	14,75	1,590	3,868	<0,01	+
	72	7	5,57	0,9329	1,522	>0,05	Ø
SO ₂	0	5	9,37	2,914	0,8168	>0,05	Ø
	6	5	6,22	1,590	2,220	>0,05	Ø
	12	5	5,45	1,872	1,939	>0,05	Ø
	24	5	6,29	2,469	0,0891	>0,05	Ø
	48	4	6,25	2,142	1,097	>0,05	Ø
	72	5	9,37	2,914	0,8168	>0,05	Ø

Zeichenerklärungen: $\bar{x}$ = Mittelwert (Properdin-Einheiten/ml);
N = Frequenz der Einzelwerte; s_D = Standardabweichung der Mittelwertdifferenz (bezogen auf H₂O-Kontrolle); t = Abweichung; p = Wahrscheinlichkeit;
Ø = nicht signifikant; + = signifikant.

Abb. 1-3: Das Verhalten der Serumpropanolinspiegel
nach einmaliger Gabe von Wein, Methanol
und Schwefliger Säure im Vergleich zur
 H_2O -Kontrolle

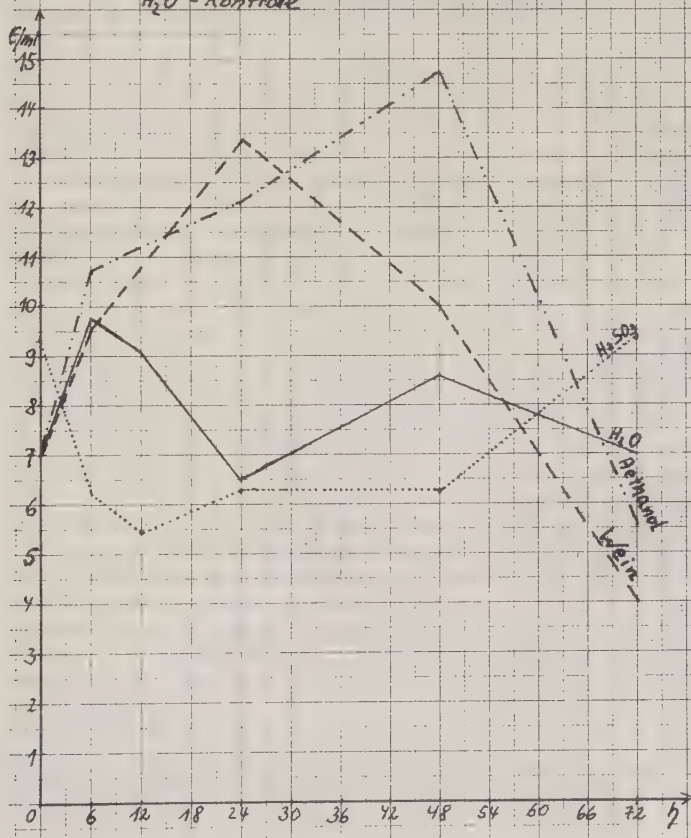


Abb. 4-6: Das Verhalten der Serumproteindinspiegel nach wiederholten Gaben von Wein, Aethanol und schwefeliger Säure im Vergleich zur H_2O -Kontrolle

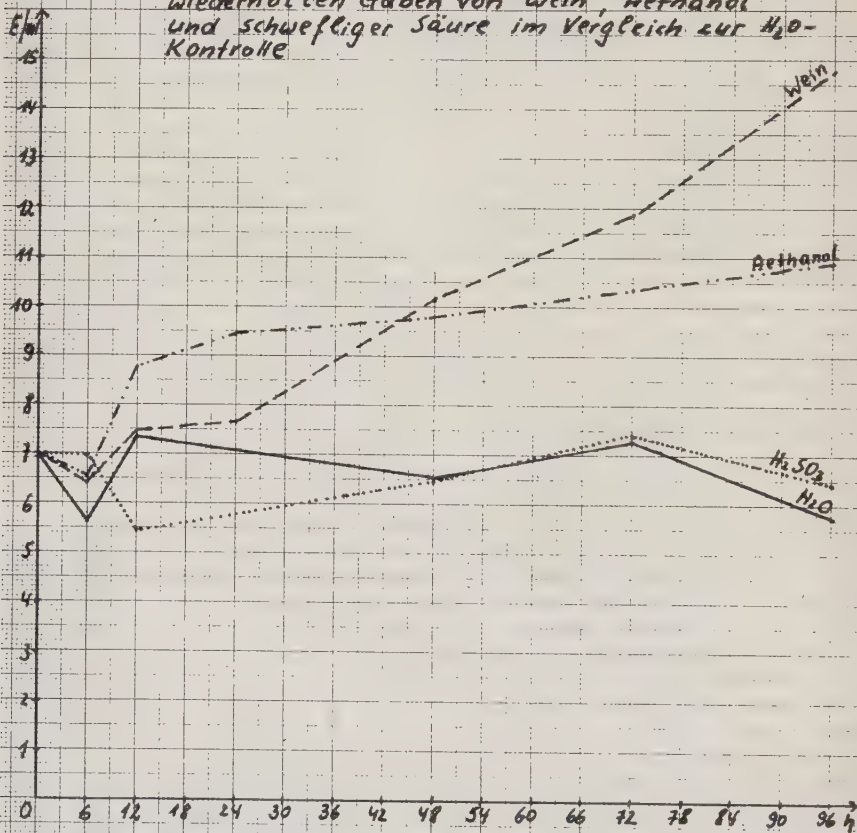


Tabelle 2: Ergebnisse der Properdin-Titrationen - Versuche mit Dauergaben -

Versuch	Zeit nach Vers.-Beg. h	N	$\bar{x}$ (E/ml)	s_D	t	p	Signi- fikanz
H ₂ O- Kontr.	0	9	6,98				
	6	5	5,64				
	12	6	7,32				
	48	7	6,54				
	72	7	7,27				
	96	7	5,74				
Wein	0	9	6,98				
	6	7	6,40	0,8742	0,0869	>0,05	Ø
	12	6	7,43	0,7226	0,0152	>0,05	Ø
	24	6	7,63	- +)	-	-	-
	48	6	10,15	1,275	2,832	<0,02	+
	72	7	11,89	0,7535	6,131	<0,001	+
	96	7	14,74	0,7362	12,22	<0,001	+
Aethanol	0	9	6,98				
	6	6	6,52	1,2377	0,7110	>0,05	Ø
	12	6	8,73	1,128	1,250	>0,05	Ø
	24	7	9,46	- +)	-	-	-
	48	7	9,79	1,2053	2,696	<0,02	+
	72	7	10,33	1,5487	1,975	>0,05	Ø
	96	6	10,90	1,1435	4,512	<0,001	+
SO ₂	0	9	6,98				
	6	5	6,96	0,5676	2,326	<0,05	+
	12	7	5,46	0,3951	4,708	<0,001	+
	48	7	6,43	0,6509	0,1690	>0,05	Ø
	72	7	7,36	0,2571	0,3500	>0,05	Ø
	96	6	6,40	0,891	0,7406	>0,05	Ø

Zeichenerklärungen: $\bar{x}$ = Mittelwert (Properin-Einheiten/ml); N = Frequenz der Einzelwerte; s_D = Standardabweichung der Mittelwertdifferenz (bezogen auf H₂O-Kontrolle); t = Abweichung; p = Wahrscheinlichkeit; Ø = nicht signifikant; + = signifikant.

+) Kein Vergleich möglich, da der 24-Std.-Kontrollwert fehlt.

B. Statistik

Die Prüfung der Mittelwerte zweier Kollektive auf eine signifikante Differenz erfolgte mittels des t-Testes nach STUDENT. Nachfolgend wird ein Berechnungsbeispiel angegeben:

Im Versuch mit Dauergaben von Wein wurden 72 Stunden nach der ersten Gabe folgende Properdintiter im Serum der einzelnen Tiere gemessen:

x_1	=	9,6	E/ml
x_2	=	10,5	"
x_3	=	10,5	"
x_4	=	13,0	"
x_5	=	14,8	"
x_6	=	10,6	"
x_7	=	14,0	"

Die entsprechenden Properdintiter bei den Kontrolltieren (mit Wasser gefüttert) betrugen:

x'_1	=	7,3	E/ml
x'_2	=	6,3	"
x'_3	=	7,7	"
x'_4	=	7,8	"
x'_5	=	7,0	"
x'_6	=	7,6	"
x'_7	=	7,2	"

Die Quadrate der Einzelmessungen waren demnach:

x_1^2	=	92,16	x'_1^2	=	53,29
x_2^2	=	110,25	x'_2^2	=	39,69
x_3^2	=	110,25	x'_3^2	=	59,29
x_4^2	=	169,00	x'_4^2	=	60,84
x_5^2	=	219,04	x'_5^2	=	49,00
x_6^2	=	112,36	x'_6^2	=	57,76
x_7^2	=	196,00	x'_7^2	=	51,84

Es soll verglichen werden der mittlere Properdinspiegel $\bar{x}$ nach 72 Stunden wiederholter Verfütterung von Wein mit dem mittleren 72-Stunden-Properspiegel $\bar{x}'$ der Kontrolltiere.

Summen der Einzelwerte:

$$S(x) = 83,0; \quad S(x') = 50,9$$

Summen der Quadrate der Einzelwerte:

$$S(x^2) = 1009,06; \quad S(x'^2) = 371,71$$

Anzahl der Messungen:

$$N = 7; \quad N' = 7$$

Mittelwerte:

$$\bar{x} = 11,89; \quad \bar{x}' = 7,27$$

Produkt aus Mittelwert und Summe der Einzelwerte:

$$\bar{x} S(x) = 986,87; \quad \bar{x}' S(x') = 370,043$$

Die gemeinsame Streuung der beiden Stichproben wurde nach folgender Gleichung (13) berechnet:

$$\begin{aligned} s_{x,x'}^2 &= \frac{S(x^2) - \bar{x} S(x) + S(x'^2) - \bar{x}' S(x')}{N + N' - 2} \\ &= \frac{1009,06 - 986,87 + 371,71 - 370,04}{7 + 7 - 2} \\ &= 1,988 \end{aligned}$$

Die Standardabweichung der Mittelwertdifferenz beträgt demnach:

$$\begin{aligned} s_D &= \sqrt{\frac{s_{x,x'}^2}{N} + \frac{s_{x,x'}^2}{N'}} \\ &= \sqrt{\frac{1,988}{7} + \frac{1,988}{7}} \\ s_D &= 0,7535 \end{aligned}$$

Die Abweichung t errechnet sich nach der Gleichung

$$\begin{aligned} t &= \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{s_D} \\ t &= \frac{11,89 - 7,27}{0,7535} \quad t = 6,131 \end{aligned}$$

Die Werte für die Wahrscheinlichkeit p bei einer bestimmten Anzahl von Freiheitsgraden ($= N + N' - 2$) wurden der Wahrscheinlichkeitstabelle entnommen (13). Dabei galt, daß p kleiner als 0,05 sein mußte, damit eine Differenz als signifikant angesehen werden konnte. In dem angegebenen Beispiel ist p für $t = 6,131$ bei 12 Freiheitsgraden $< 0,001$. Das bedeutet, daß sich die beiden miteinander verglichenen Mittelwerte statistisch signifikant unterscheiden.

C. Auswertung

Aus den Tabellen 1 - 2 sowie den Abbildungen 1 - 6 lassen sich folgende Ergebnisse ablesen:

Die Höhe des Properdinspiegels vor Beginn der Versuche (sog. Nullwert) lag durchschnittlich bei 7 E/ml und entsprach damit den Titrationsergebnissen, die PILLEMER (46) bei der Prüfung von Kaninchenserum erhielt (4-8 E/ml).

1. Einzelversuch

Die Wasserkontrolle zeigte nur bei 6 Stunden einen statistisch signifikanten Anstieg, sonst bewegte sie sich in Höhe des Ausgangswertes.

Bereits 6 Stunden nach Applikation von Wein bzw. Aethanol war ein Ansteigen des Serumproperdins zu erkennen. Die höchsten Werte wurden nach 24 (Wein) bzw. 48 (Alkohol) Stunden erreicht, und zwar erhielten wir bei beiden Testlösungen eine Steigerung um ca. 100% des Ausgangswertes (Alkohol ca. 110%, Wein ca. 90%). Zu erwähnen ist, daß weder nach Wein noch nach Alkoholgabe eine initiale Titersenkung eintrat. Ein Vergleich mit denen der H_2O -Kontrolle erbrachte lediglich für den 24-Stunden-Wert (Wein) bzw. die 24- und 48-Stunden-Werte (Alkohol) eine signifikante Differenz.

Entsprechende Titerschwankungen waren im Serum der mit SO_2 behandelten Tiere nicht zu erkennen. Die aus der Abb.3 ersichtliche Senkung des Properdinspiegels war nur im Vergleich zum Nullwert, nicht aber zur H_2O -Kontrolle statistisch abzusichern.

2. Dauerversuch

Hier zeigten die H_2O -Kontrollen keine signifikanten Titerschwankungen.

Wiederholte Verfütterungen von Alkohol und Wein führten noch eindeutiger

als Einzelgaben zu statistisch signifikanten Titererhöhungen. Allerdings traten die Steigerungen bei diesem Versuch erst später in Erscheinung, hielten jedoch dann während der gesamten Versuchsdauer an. Über den Zeitpunkt eines eventuellen Titerabfalls konnten wir nichts aussagen, da nach 96 Stunden Properdinbestimmungen nicht mehr durchgeführt wurden. Bemerkenswert ist, daß der Wein anscheinend eine stärkere Aktivierung des Properdinspiegels als Alkohol allein bewirkte; so hatte nach 96 Stunden der Titer bei den mit Wein behandelten Tieren das Doppelte des Ausgangswertes erreicht, während die Steigerung bei den mit Alkohol behandelten Tieren nur das Ein- einhalbfache des Ausgangswertes betrug.

Die Verfütterung von schwefliger Säure wirkte sich im Versuch praktisch wie die Verabreichung von Wasser aus, wobei die geringe Depression nach 12 Stunden trotz statistischer Signifikanz nur mit großer Kritik anzusehen ist.

IV. DISKUSSION

Die nachfolgende kritische Auseinandersetzung mit der Methodik und den Untersuchungsergebnissen soll zum Zwecke der besseren Aufgliederung in chronologischer Reihenfolge geführt werden.

Diskussion der Methodik

Zu A (Tierversuch):

1. Versuchstiere und -anordnung. Die gewählte Versuchsanordnung entspricht einem Experiment, in dessen Verlauf ein 70 kg schwerer Mensch einmal 0,7 l ("Einzelversuch") bzw. viermal 0,7 l der betr. Testflüssigkeit alle 24 Stunden ("Dauerversuch") auf nüchternen Magen zu sich nimmt. Im Falle des Weines würde die Menge von 0,7 l dem Inhalt einer Flasche gleichkommen. Dabei waren wir uns im Klaren, daß eine solche Belastung relativ unphysiologisch ist.

Die Wahl der Weinsorte erfolgte nach rein zufälligen Gesichtspunkten. Die übrigen Bestandteile des Weines (Stickstoffverbindungen, Bukettstoffe, flüchtige und nichtflüchtige Säuren, Mineralien) wurden nicht näher analysiert, weil sie in ihrer Bedeutung quantitativ und qualitativ zurückstehen.

2. Fütterung. Die beschriebene Fütterungsmethode erwies sich als am besten geeignet. Versuche, bei denen das Tier zur Fütterung in Rückenlage

gebracht worden war, hatten eine höhere Zahl an Todesfällen infolge via falsa ergeben (16).

3. Blutentnahme. Es mußte stets darauf geachtet werden, daß das Blut nicht haemolysierte, was zum Auftreten von antikomplementärer Aktivität hätte führen können. Schon aus diesem Grunde ließ sich die Blutentnahme mittels Ansaugen durch eine Kanüle nicht durchführen. Auch Arterienpunktion war nicht vorteilhaft. Um das Auftreten von antikomplementärer Aktivität zu verhindern, wurde das Blut sofort nach der Entnahme zentrifugiert. Die Aufbewahrung der Sera in der Tiefkühltruhe war zulässig, da bei den dort herrschenden Temperaturen keine Änderung des Properdinspiegels zu erwarten war. Da ein wiederholtes Auftauen zum Nachlassen der Komplementaktivität geführt hätte, konnte pro Kaninchenserum nur eine Properdintitration durchgeführt werden.

Zu B (Properdinbestimmung):

Es wurde das Verfahren nach ISLIKER (31) gewählt, weil es einfach und relativ leicht auszuführen ist. Die anderen serologischen Bestimmungsmethoden (Modifikationen der PILLEMER-Technik nach ZANUSSI (65), FRITZSCHE u. Mitarb. (12) und DRESSLER (3)) wären infolge der Vielzahl der Seren, welche täglich getestet werden mußten, nicht ausführbar gewesen. Wir waren uns der Nachteile, die dem Verfahren anhaften und die bei WILLERS, POND-MAN u. WINKLER (63) beschrieben sind, bewußt. In diesem Zusammenhang ist bezüglich der Versuchsanordnung folgendes zu erwähnen:

Eine antikomplementäre Aktivität des Kaninchensersums war durch Kontrollen, in denen die haemolytischen Aktivitäten von RP-Serum, Kaninchenserum und die Kombination von beiden verglichen wurden, auszuschließen.

Scheinbar niedrige Properdintiter werden häufig durch die Anwesenheit sogenannter Inhibitoren (α_2 -Globulinfraktionen) bedingt. Diese kann man in ihrer Wirkung ausschalten, wenn man die beiden Schritte der Properdinbindung, die in der Einleitung beschrieben wurden, getrennt ausführt, d.h. indem man zunächst das betr. Serum mit Zymosan bei 17° C versetzt, den Properdin-Zymosan-Komplex sodann abzentrifugiert und in einem zweiten Arbeitsgang bei 37° C mit RP- und R₃-Serum inkubiert. (Bestimmung des sog. "available properdin" nach LEON (39)). Auch wir erhielten bei einigen Seren einen scheinbaren Properdintiter von 0. Daneben wiesen bei unserem "Einzelversuch" die Verdünnungsreihen einiger Seren sogenannte Zonenphänomene

(d.h. Alterieren der Haemolyse von stärker nach schwächer und wieder nach stärker mit zunehmender Verdünnung) auf, was ebenfalls auf Inhibitoren zurückzuführen ist. Derartige Titer wurden bei den Ergebnissen nicht verwertet. Daraus erklärt sich die Tatsache, daß einzelne Kollektive eine niedrigere Zahl von Meßwerten aufweisen.

Ein Zuwachs an C₃, bedingt durch den Komplementgehalt des Testserums, kann ebenfalls als Fehlerquelle bei der Properdintitration in Erscheinung treten; seine Elimination gelingt nach dem oben genannten Verfahren (39). Es war jedoch anzunehmen, daß der Komplementgehalt der Einzelseren während der Versuchsdauer konstant blieb und infolgedessen zu jedem Zeitpunkt der Messung in gleichem Maße in Erscheinung trat, wodurch ein statistischer Vergleich zwischen den Properdintitern zu verschiedenen Zeiten gerechtfertigt wird. Zu dieser Annahme waren wir berechtigt, da die betreffenden Testsubstanzen keinen Einfluß auf den Komplementgehalt des Kaninchenserums haben (KLIEWE u. GILLISSEN (35)).

Für die Wahl der Zymosane war der Gesichtspunkt maßgebend, daß jeweils für einen Gesamtversuch ("Einzel- und Dauerversuch") gleiches Zymosan verwendet werden mußte. Nur so waren vergleichbare Resultate zu erzielen, da verschiedene Zymosane in ihrer Aktivität variieren können (47).

Die Begründung der Wahl von Meerschweinchenserum zur Verwendung als R-Serum wurde bereits bei der Beschreibung der Methodik gegeben.

Diskussion der Ergebnisse

Bei den Substanzen, deren Einfluß auf den Properdinspiegel bislang festgestellt worden ist, handelte es sich ausschließlich um parenteral gegebene Stoffe, wie Lipopolysaccharide (Endotoxine), Polysaccharide (z.B. Zymosan), Bakterienzellwände. Kürzlich wurde auch über die Beeinflussung des Serum-Properdin-Spiegels durch peroral verabfolgte, allerdings in unphysiologisch hohen Dosen gegebene Heilmittel, die Echinacin enthielten, berichtet (von GRAEVENITZ und HUSMANN (15)). Höhe und Persistenz des erreichten Properdinspiegels sind bei diesen Versuchen von der Dosierung der betreffenden Substanzen abhängig (36).

LANDY und PILLEMER (36, 37) stellten fest, daß i.p.-Applikation von 0,1 γ Lipopolysaccharid (LPS) aus *S.typhi* bei Mäusen ohne Effekt auf den Properdinspiegel blieb; die Dosis von 1 γ LPS hob den Properdintiter um 50% an; 10 γ LPS bedingten Steigerung auf 200% des Ausgangswertes ohne voraus-

gehende initiale Senkung. Eine solche war erst bei einer Dosis von 100 μ g LPS zu erkennen und betrug ca. 50% des Ausgangswertes. (Beim letztgenannten Versuch stieg der Properdintiter auf 200%.) Ein Vergleich unserer Ergebnisse mit denen der genannten Autoren ergibt, daß die maximale Steigerung des Titers (24 - 48 Std. nach Injektion) zum gleichen Zeitpunkt erfolgte.

In diesem Zusammenhang sind auch die Versuche von ROSS (50) bemerkenswert. Er erhielt nach i.v.-Injektion von 5,0 mg/kg Zymosan bei Mäusen einen Abfall des Properdintiters auf 50% bereits nach 5 min. 125,0 mg/kg Zymosan bewirkten sogar einen Abfall auf ca. 16% des Ausgangswertes in der gleichen Zeit. Bei der erstgenannten Dosis erreichte der Properdintiter nach 24 Std. wieder den Ausgangswert und lag nach 48 Std. um 100% darüber. Diese Steigerung hielt 10 Tage an. Dagegen blieb der Properdinspiegel der Tiere, die 125 mg Zymosan/kg erhalten hatten, 10 Tage lang unter dem Ausgangswert.

EICHENBERGER u. ISLIKER (4) stellten nach Injektionen von Coli-LPS ebenfalls einen initialen Abfall des Properdinspiegels fest, nicht dagegen bei Gaben von Pyrexal, welches einen sofortigen Anstieg verursachte. Es kann demnach nicht erstaunen, daß in unseren Versuchen ein initialer Abfall nicht zu beobachten war. Die oben genannten Autoren führen diesen Abfall nicht auf Properdinbindung durch LPS, sondern auf die Ausschaltung von körpereigenen Substanzen (z.B. Heparin), die Properdin binden können, zurück.

Auffällig an unseren Versuchen sind auch die unterschiedlichen Befunde zwischen den Effekten von Alkohol und Wein in zeitlicher und quantitativer Hinsicht. Sie bestätigen damit die Ansicht KLEWES (34), daß die Begleitstoffe den Wein eben zu einem wesentlich anderen Getränk machen als eine gleichstarke alkoholische Lösung.

Es erhebt sich nun die Frage nach dem Wirkungsmechanismus des Weins (bzw. Alkohols) im Rahmen unserer Untersuchungen. Es ist anzunehmen, daß durch einmalige Gabe eine einmalige Stimulierung des Properdinspiegels erfolgte. Die Tatsache, daß die Kurven nach Alkohol- und Weingaben im Dauerversuch keine Senkungen aufwiesen, läßt vermuten, daß hierbei eine mehrfache Stimulierung des Properdinsystems stattfand, und zwar derart, daß vor einem prospektiven Titerabfall stets eine neue Aktivierung erfolgte.

Die Frage, auf welchem Wege eine Beeinflussung des Properdinsystems erfolgte, kann noch nicht sicher beantwortet werden. Folgende Möglichkeiten wären denkbar:

- a) Die Substanzen greifen direkt am Properdin an, etwa in der Weise, daß sie bisher gebundenes Properdin freisetzen;
- b) die Substanzen bewirken eine Mehrbildung von Properdin, etwa durch Angriff an einem neurohumoralen Regulationsmechanismus.

Von praktischer Bedeutung ist auch die Frage, inwieweit die Stimulierung des Properdinsystems einer Steigerung des bakteriziden Effektes des Blutes gleichkommt oder parallel geht. KLIEWE u. GILLISSEN fanden (35), daß orale Gaben von Wein, Aethanol und schwefliger Säure keinen Effekt auf das Komplement und die Blutbakterizidie ausübten. Bei ihren Versuchen benutzten sie ebenfalls Kaninchen als Versuchstiere; als Testkeim diente *M. pyogenes* var. *aureus* SG 511. Die Befunde sagen aber insofern nichts über eine Beziehung zwischen Properdinsystem und Blutbakterizidie aus, als der genannte Testkeim, wie alle grampositiven Bakterien, nicht properdinsensibel ist. Vielmehr ist anzunehmen, daß diejenigen Faktoren der unspezifischen Resistenz, die gegen grampositive Keime gerichtet sind und die eingangs erwähnt wurden, bei diesen Versuchen erfaßt wurden.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß zwar eine Beeinflussung des Properdinspiegels bei der genannten Dosierung durch Wein bzw. Alkohol stattfindet, daß aber über den Wirkungsmechanismus nichts Eindeutiges ausgesagt werden kann. Es wäre verfehlt, unter Hinweis auf die vorliegenden Versuchsergebnisse, Wein oder Alkohol als Heilmittel allein bei Infektionen zu empfehlen, da eine Properdinsteigerung keineswegs einer absoluten Resistenz gegen eine Infektion gleichkommt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Das Verhalten des Serum-Properdinspiegels unter Einfluß von Wein, Äthylalkohol und schwefliger Säure (in der im Wein vorliegenden Konzentration) wurde im Tierexperiment an Kaninchen untersucht.

Nach einleitenden Ausführungen über die biologische Bedeutung des Properdinsystems und genauer Beschreibung der Methodik (Properdintitration im Serum nach ISLIKER) wird über die Ergebnisse berichtet. Statistisch beweisende Titererhöhungen um 100% des Ausgangswertes waren sowohl nach einmaliger als auch nach wiederholter peroraler Gabe von Wein bzw. Äthylalkohol zu registrieren, nicht dagegen nach Fütterung mit schwefliger Säure. Die Steigerung des Properdinspiegels nach mehrmaliger Gabe der Testsubstanzen hielt länger an als nach Einzelgabe, die nur einen ca. 30 Stunden dauernden Titeranstieg ohne initiale Senkung bewirkt hatte. Als Kontrolle diente Leitungswasser.

Methodik und Untersuchungsergebnisse sowie die biologische Bedeutung des Weines werden im Zusammenhang mit Arbeiten anderer Autoren diskutiert.

VI. LITERATUR

1. BARLOW, J. L., H. v. VUNAKIS und L. LEVINE: Bakteriophage neutralisation as assay of properdin levels in fresh serum. *Fed. Proc.* 16, 405 (1957).
2. CARLSON, S.: Begriff und Wesen des Properdinsystems im Rahmen der unspezifischen Infektabwehr des Organismus. *Med. Welt* 4, 200 (1960).
3. DRESSLER, O.: Immunchemische Studien über das Properdinsystem. *Z. Immunforsch.* 117, 450 (1959).
4. EICHENBERGER, E. und H. C. ISLIKER: Das Verhalten des Properdins nach intravenöser Injektion bakterieller Lipopolysaccharide beim Menschen. *Helv. physio. pharmacol. Acta* 14, C 64 (1956).
5. EYQUEM, A., J. C. FRANCO und L. DELMONTE: La properdine. *Biol. Méd.* 48, 21 (1959).
6. EYQUEM, A. und J. L. TULLIS: Importance de la properdine en clinique. *Proc. 6th Congr. Europ. Soc. Hemat. Copenhagen 1957*, p. 286.
7. FELDMANN, H. A., L. PILLEMER und L. T. MILLER: Relationship of toxoplasma antibody activator to properdin system. *Fed. Proc.* 15, 587 (1956).
8. FINKELSTEIN, R. A., R. ALLEN und S. E. SULKIN: Inhibition of herpes simplex virus by normal serum; its relationship to the properdin system. *J. infect. Dis.* 104, 184 (1959).
9. FISCHER, H., H. BRÜCKNER, W. FRITZSCHE und H. BECKER: Entzündliche Reize und Reizantworten. Über das Verhalten von Fibrinolyse, Komplement- und Properdinaktivität bei der vegetativen Gesamtschaltung. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 62, 324 (1956).
10. FLEMING, A.: On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and excretions. *Proc. Roy. Soc. (London)* 93, 306 (1922).
11. FRANK, E. D., J. FINE und L. PILLEMER: Serum properdin levels in hemorrhagic shock. *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.* 89, 223 (1955).
12. FRITZSCHE, W., H. FISCHER, G. SCHWICK und H. E. SCHULTZE: Über die Bestimmung von Komplement und Komplementfraktionen. *Klin. Wschr.* 36, 100 (1958).
13. J. R. Geigy A. G.: Wissenschaftliche Tabellen. Basel 1955.
14. v. GRAEVENITZ, A.: Zur Bestimmung des sogenannten "available properdin" im menschlichen Serum. *Ärztl. Forsch.* 14, 3 I/134 (1960).
15. v. GRAEVENITZ, A. und K. H. HUSMANN: Die Beeinflussung der Serumproperdin-Aktivität durch unspezifische Reiztherapeutica im Tierexperiment. *Arzneimittelforsch.* 10, 184 (1960).

16. GROENEVELD, H. B. : mündl. Mitteilung.
17. GRÖNROOS, P. : The action of properdin on toxoplasma gondii. Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 33, 310 (1955).
18. GRUBER, M. und K. FÜTAKI: Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. Dtsch. med. Wschr. 33, 1588 (1907).
19. HEGEDÜS, A. und H. GREINER: Quantitative Bestimmung der Komplementbestandteile. Z. Immunforsch. 92, 1 (1938).
20. HEYMANN, G. : Das Properdinsystem und seine Beziehungen zur Immunität und zur Abwehrlage des Organismus. Zbl. Bakt. I. Ref. 176, 305 (1960).
21. HINZ, C. F. : Properdin levels in infectious and noninfectious diseases. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 268 (1956).
22. HINZ, C. F. jr., W. S. JORDAN jr. und L. PILLEMER: The properdin system and immunity. IV. The hemolysis of erythrocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. J. Clin. Invest. 35, 453 (1956).
23. HIRSCH, J. G. : The effect of spermine on tubercle bacilli. J. exp. Med. 95, 191 (1952).
24. HIRSCH, J. G. : The antimycobacterial activity of various amines related to spermine in chemical structure. J. exp. Med. 97, 323 (1953).
25. HIRSCH, J. G. : Phagocytin: a bactericidal substance from polymorphonuclear leucocytes. J. exp. Med. 103, 589 (1956).
26. HUSMANN, K. H. : Experimenteller Beitrag zum Problem der Inaktivierung von Bakteriophagen durch das Properdin-System. Zeitschr. f. Hygiene 146, 89 (1959).
27. HUSMANN, K. H. : Neues über unspezifische Resistenz gegen Infektionen. Ärztl. Praxis X. Jg., 38, 881 und 895 (1958).
28. ISLIKER, H. : Stand und Probleme der Erforschung des Properdinsystems. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 62, 197 (1956).
29. ISLIKER, H. C. : The properdin system, a review. Vox Sang. 1, 8 (1956).
30. ISLIKER, H. : Unspezifische, humorale Abwehrmechanismen. Schweiz. Med. Wschr. 88, 127 (1958).
31. ISLIKER, H. C. und E. LINDNER: Methods for the assay of properdin. Vox Sang. 3, 23 (1958).
32. KABAT, E. A. und M. M. MAYER: Experimental Immunochemistry. (Ch. C. Thomas, Springfield, Ill., 1948).
33. KAEMMERER, H. : Das Verhalten von Bakterien gegen einige Blutfarbstoff-Derivate. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 31, 704 (1914).
34. KLEWE, H. : Wein als Heilmittel. Ärztl. Praxis 11, 671 (1959).
35. KLEWE, H. und G. GILLISSEN: Der Einfluß von Wein, Aethanol und

- schwefliger Säure auf die bakterizide Kraft des Blutes. Weinwiss. 13, 105 (1959).
36. LANDY, M. und L. PILLEMER: Elevation of properdin levels in mice following administration of bacterial lipopolysaccharides. J.exp. Med. 103, 823 (1956).
 37. LANDY, M. und L. PILLEMER: Increased resistance to infection and accompanying alteration in properdin levels following administration of bacterial lipopolysaccharides. J.exp. Med. 104, 383 (1956).
 38. LANG, W.: Blutbakterizidie, Komplementfaktoren und Properdin-System. Münch.med. Wschr. 101, 8 (1959).
 39. LEON, M. A. und E. CHAPMAN: Quantitative studies on the properdin-complement system. J.exp. Med. 103, 285 (1956).
 40. LEPOW, I. H.: Studies on the activation of a proesterase associated with partially purified first component of human complement. J.exp. Med. 107, 451 (1958).
 41. LINDNER, E.: Das Properdinsystem und seine Beeinflussung durch ionisierende Strahlen. Dissertation (Bern 1956).
 42. McNALL, E. G.: Assay of properdin in biological fluids. Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 94, 399 (1957).
 43. NANNI, G.: Opsonic activity of properdin. Experientia 14, 23 (1958).
 44. PALM, J. E.: The use of zymosan in explorations for optimum conditioning of rats for human tumor transplantation in an experimental chemotherapy. Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 2, 138 (1956).
 45. PETTERSSON, A.: Über die bakteriziden Leukozytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität. Zbl. Bakt. I 39, 423 (1905).
 46. PILLEMER, L., L. BLUM, J. H. LEPOW, O. A. ROSS, E. W. TODD und A. C. WARDLAW: The properdin system and immunity. I. Demonstration and isolation of a new serumprotein, properdin, and its role in immune phenomena. Science 120, 279 (1954).
 47. PILLEMER, L., L. BLUM, J. H. LEPOW, L. WURZ und E. W. TODD: The properdin system and immunity. III. The zymosan assay of properdin. J.exp. Med. 103, 1 (1956).
 48. PILLEMER, L. und O. A. ROSS: Alterations in serum-properdin levels following injections of zymosan. Science 121, 732 (1955).
 49. PILLEMER, L., M. D. SCHOENBERG, L. BLUM und L. WURZ: Properdin system and immunity. II. Interaction of the properdin-system with polysaccharides. Science 122, 545 (1955).
 50. ROSS, O. A.: Experimental studies of the in vivo relationships of the properdin system to resistance to infection. Amer. J. Path. 34, 471 (1958).

51. ROTTINO, A. und A. L. LEVY: Serum properdin levels in patients with Hodgkin's disease and carcinoma. *Cancer N. Y.* 10, 877 (1957).
52. ROWLEY, D.: Stimulation of natural immunity to *E. coli*-infection. (Observation on mice). *Lancet* 1955/I, 232.
53. ROWLEY, D.: a) The virulence of strains of *B. coli* for mice. *Brit. J. exp. Path.* 35, 528 (1954).
b) The basis for lipopolysaccharide induced non-specific immunity. *Proc. 6th Congr. Europ. Soc. Hemat. Copenhagen* 1957.
54. SCHEIFFARTH, F., W. FRENGER und H. GÖTZ: Immunoelktrophoretische Studien am Properdin-Zymosan- und Properdin-Inulin-Komplex. *Klin. Wschr.* 36, 367 (1958).
55. SCHMIDT, H.: Das Properdin. Dr. Dietrich Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1959.
56. SCHNEIDER, R.: Die bakterizide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten und ihre Beziehungen zu den Leukozyten. *Arch. Hyg.* 70, 40 (1909).
57. SCHULTZE, H. E. und G. SCHWICK: Das Properdinproblem. *Blut Bd. IV*, 280 (1958).
58. Van VUNAKIS, H., J. L. BARLOW und L. LEVINE: *E. Coli* phage inactivation by the properdin system in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci., Wash.* 42, 391 (1956).
59. WARLAW, A. C., L. BLUM und L. PILLEMER: The bactericidal activity of the properdin system. *Fed. Proc.* 14, 480 (1955).
60. WARLAW, A. C. und L. PILLEMER: The properdin system and immunity. V. The bactericidal activity of the properdin system. *J. exp. Med.* 103, 533 (1956).
61. WEEGWOOD, R. J., H. S. GINSBERG und L. PILLEMER: The properdin system and immunity. VI. The inactivation of Newcastle disease-virus by the properdin system. *J. exp. Med.* 104, 707 (1956).
62. WESTPHAL, O.: Properdin. *Monatskurse für ärztl. Fortbildung* 1957, 393.
63. WILLERS, J. M. N., K. W. PONDMAN und K. C. WINKLER: An improved properdin titration, based on the elimination of an inhibitor. *Vox Sang.* 4, 21 (1959).
64. WRIGHT, A. C. und S. R. DOUGLAS: An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with phagocytosis. *Proc. Rcy. Soc. (London)* 72, 357 (1903).
65. ZANUSSI, C., P. TASCHINI, G. SELVA und C. ORTOLANI: Validità e limiti del dosaggio delle properdina serica mediante zymosan. *Boll. Ist. sieroter. Milan.* 37, 237 (1958).

Herzlichsten Dank Herrn Professor Dr. H. K l i e w e für die Über-
lassung des Themas sowie seinen Assistenten Dr. K. H. H u s m a n n
und Dr. A. v o n G r a e v e n i t z für die wertvollen Anregungen
bei der Durchführung der Untersuchungen.

LEBENS LAUF

Am 9. September 1935 wurde ich als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Alexander Spudas und seiner Ehefrau Anna-Eva, geb. Götz, in Kurschenai/Litauen geboren.

Nach Einmarsch der Russen wurden wir 1941 nach Kalisch/Wartheland umgesiedelt.

1945 flohen wir vor der nahenden Front nach Fulda. Im gleichen Jahre nahm mein Vater eine Stellung als Lagerarzt bei der internationalen Flüchtlingsorganisation U. N. R. R. A. an, und wir lebten in Münster bei Dieburg und Hanau. 1947 beendete ich das 4. Schuljahr der litauischen Volksschule und trat in das litauische Gymnasium in Hanau ein.

1949 ließ sich mein Vater als praktischer Arzt in Fulda nieder, und ich besuchte die realgymnasiale Aufbauschule, an der ich am 7.3.1955 die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem Sommersemester 1955 begann ich mein Medizinstudium an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt am Main, wechselte im Sommersemester 1956 zur Philipps-Universität Marburg an der Lahn und bin seit dem Wintersemester 1956/57 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz immatrikuliert. Hier legte ich am 29. April 1958 die ärztliche Vorprüfung ab und will mich nach dem Wintersemester 1960/61 der ärztlichen Prüfung unterziehen.

